

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора  
кафедри патофізіології Національного медичного університету  
імені О.О. Богомольця МОЗ України  
Зябліцева Сергія Володимировича  
на дисертаційну роботу Марченко Ірини Василівни  
«Аналіз асоціації поліморфних варіантів гена  
ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 (*ENPP1*)  
з розвитком цукрового діабету 2-го типу та факторами його ризику»,  
що представлена до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата  
медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

### Актуальність теми дисертації.

Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) є глобальною проблемою охорони здоров'я у зв'язку зі швидкими культурними та соціальними змінами, постарінням населення, посиленням урбанізації, зміною харчування, зменшенням фізичної активності. Деякі фактори ризику можна контролювати, наприклад режим харчування та ожиріння, інші, такі, як стать, вік, генетична схильність, перебувають поза нашим контролем. Вважають, що цукровий діабет 2 типу є полігенним захворюванням, що розвивається через складну взаємодію між декількома генами та факторами навколишнього середовища. На даний час відомо чимало генетичних маркерів ЦД2, однак патогенетичний зв'язок більшості з них ще потрібно підтвердити. На даний час відомо понад 300 локусів, які тісно пов'язані із ЦД2. Найбільш дослідженими і такими, що становлять вагомий науковий інтерес, є гени *KCNJ11*, *TCF7L2*, *PPARG*, *IRS1*, *PON 1*, *SLC30A8*, *FTO* та *TNFA*. Визначення ролі алельного поліморфізму генів у розвитку і прогресуванні цукрового діабету 2 типу відкриє шлях для нових підходів до діагностики, стратифікації, моніторингу, профілактики та лікування цього захворювання.

Одним із генів-кандидатів, який широко вивчається дослідниками всього світу є ген ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 (*ENPP1*).

Проте дані, одержані різними вченими, мають популяційні відмінності й не завжди збігаються.

Отже, тема дисертаційної роботи Марченко Ірини Василівни безумовно, є своєчасною, актуальною та доцільною.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Сумського державного університету і є фрагментом наукових досліджень кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету «Патологічне значення поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку найпоширеніших патологічних процесів і хвороб людини» (державний реєстраційний номер 0114U006297) і «Молекулярно-генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії» (державний реєстраційний номер 0117U003926).

### **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Наукові положення, висновки і рекомендації, які сформульовані в дисертації, базуються на достатньому клінічному матеріалі (317 хворих з ЦД2 та 302 особи контрольної групи) із використанням сучасних, інформативних, адекватних методів дослідження, зокрема, визначення поліморфізму генів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом рестрикційних фрагментів.

Сформульовані дисертантом основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань інструментальних, загальноклінічних, біохімічних та генно-молекулярних методах дослідження. При статистичній обробці отриманих даних застосовувалась прикладна програма «SPSS-17». Отримані результати досліджень, їх аналіз та наукові положення є вірогідні, чітко сформульовані і цілком аргументовані. Адекватність обраних методів дозволяє оцінити одержані результати, основні наукові положення та висновки проведених досліджень як достовірні.

Дослідження побудовано методично правильно, висновки і рекомендації аргументовані і повністю відповідають поставленій меті та завданням дослідження, мають як теоретичне так і практичне значення.

### **Новизна дослідження та одержані результати.**

Автором встановлено, що поліморфізм rs997509 гена *ENPP1* асоційований із розвитком цукрового діабету 2 типу в українській популяції. Виявилось, що у носіїв мінорного T-алеля ризик розвитку ЦД2 у 2 рази вище, ніж у гомозигот за основним C-алелем. З'ясовано, що поліморфізм rs1044498 гена *ENPP1* також асоційований із розвитком цукрового діабету 2 типу. Носії мінорного Q-алеля хворіють на ЦД2 типу в 1,4 рази частіше, ніж гомозиготи за основним K-алелем.

Дисертант встановила відмінність щодо розподілу генотипів за rs997509-поліморфним варіантом гена *ENPP1* серед жінок, хворих на ЦД2, та осіб контрольної групи. Виявилось, що жінки з СТ-генотипом за rs997509-поліморфізмом мають утричі вищий ризик розвитку цукрового діабету.

Автором виявлений вплив поліморфних варіантів гена *ENPP1* на розвиток цукрового діабету 2 типу у пацієнтів старше 75 років. Носії мінорного T-алеля за rs997509-поліморфізмом хворіють на цукровий діабет в 4,5 рази частіше в порівнянні з гомозиготами за основним C-алелем.

Встановлено, що в осіб з ожирінням, носіїв мінорного T-алеля, ризик розвитку цукрового діабету 2 типу утричі вищий, ніж у гомозигот за основним C-алелем. При аналізі поєднаного впливу поліморфних сайтів гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 та відомих факторів ризику цукрового діабету 2 типу виявилось, що поєднання в однієї особи з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> носійства мінорного T-алеля поліморфізму rs997509 та одного з варіантів генотипів K/K, K/Q або Q/Q за поліморфізмом rs1044498 досліджуваного гена є значущим предиктором підвищеного ризику розвитку цукрового діабету 2 типу.

### **Теоретичне значення результатів дослідження.**

Результати роботи значно розширюють відомості про роль генетичних

факторів у патогенезі цукрового діабету 2 типу, акцентована увага на участь у цих механізмах поліморфних варіантів гена *ENPP1*, а саме rs997509 та rs1044498.

### **Практичне значення результатів дослідження.**

Отримані дані дозволяють прогнозувати ризик розвитку цукрового діабету 2 типу та його ускладнень в осіб, що є носіями мінорного алеля за досліджуваними поліморфізмами (rs1044498 та rs997509); виявляти осіб, генетично схильних до ЦД2, проводити ранню діагностику інсулінорезистентності та сформуванати групу ризику щодо розвитку ЦД2. Дисертантом зареєстровано патент на корисну модель «Спосіб прогнозування розвитку цукрового діабету 2-го типу» (Пат. на корисну модель. 131229, опубл. 10.01.19, бюл. № 1), що має прикладне значення для теоретичної та клінічної медицини, а саме у галузі патофізіології, ендокринології, діабетології та медичній генетиці для прогнозування ризику розвитку цукрового діабету 2 типу.

### **Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.**

Матеріали дисертації можуть бути використаними в науковій роботі, навчальному процесі та практичній лікарській діяльності, що підтверджує досить високий рівень її впровадження. Матеріали роботи неодноразово доповідалися на міжнародних, всеукраїнських та регіональних науково-практичних конференціях. Результати досліджень, подані в дисертації, впроваджено в науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Медичного інституту Сумського державного університету, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Одеського національного медичного університету, Харківської академії післядипломної освіти, а також кафедри сімейної медицини Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці).

### **Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, із яких 6

статей (2 – в зарубіжному виданні, який включений до наукометричної бази даних Scopus, 4 – у фахових виданнях, що входять до переліку ДАК України), 13 тез доповідей (1 – в зарубіжному виданні, що обліковується наукометричною базою даних Scopus) у матеріалах конгресів та конференцій, 1 патент на корисну модель. Дві наукові праці опубліковано за одноосібної участі автора.

### **Структура та зміст дисертації.**

Дисертаційна робота викладена державною мовою на 151 сторінці друкованого тексту та складається із «Вступу», «Огляду літератури» (2 підрозділи), експериментальної частини, до якої входять розділи «Матеріали та методи досліджень» (3 підрозділи), «Результати досліджень» (3 підрозділи), «Аналіз та узагальнення результатів» та «Висновки». Робота ілюстрована 16 рисунками та містить 25 таблиць. Закінчується списком використаних літературних джерел, що включає 210 посилань.

У *вступі* дисертантом логічно і послідовно обґрунтована доцільність проведення дослідження, стисло охарактеризований стан проблеми, доведена її актуальність. Автором грамотно сформульовані мета та завдання роботи, окреслені її предмет та об'єкт, визначена наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, відображений особистий внесок та наведена інформація щодо проведення апробації дослідження.

Розділ *«Огляд літератури»* охоплює велику кількість літературних даних по темі дисертаційної роботи із детальною інформацією, що включає сучасні уявлення про патогенез та фактори ризику розвитку цукрового діабету 2-го типу та роль алельного поліморфізму гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 у розвитку ЦД 2-го типу.

У розділі *«Матеріали та методи»* описано методи виділення ДНК, полімеразної ланцюгової реакції, рестрикційного аналізу та електрофорезу нуклеїнових кислот. Особливого значення набуває в роботі статистичний аналіз результатів, в який включено, зокрема, розрахунок частоти гаплотипів та аналіз нерівноважного зчеплення (linkage disequilibrium) та моделювання

міжлокусних взаємодій за допомогою методу зменшення багатфакторної розмірності (MDR).

У розділі «*Результати досліджень*» наведено результати генетичного дослідження та аналізу клінічних даних з огляду індивідуального генотипу кожного хворого. Дисертантом показаний зв'язок алельних поліморфізмів rs997509 та rs1044498 гена *ENPP1* із розвитком цукрового діабету 2-го типу та факторами його ризику. Проаналізований поєднаний вплив вивчених поліморфізмів на ризик розвитку ЦД 2-го типу.

Розділ «*Аналіз та узагальнення результатів*» дозволяє автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та порівняти їх із відомими даними інших дослідників. Дисертант подає власне бачення і розуміння проблеми, пояснює встановлені закономірності та розбіжності при порівнянні отриманих даних, це демонструє значення отриманих результатів для сучасної науки.

Завершують наукове дослідження сформульовані 7 висновків, які безпосередньо впливають із отриманих результатів і повністю відповідають положенням, що були зазначені в меті та завданнях роботи.

Усі наведені у роботі цифрові дані статистично опрацьовані і проаналізовані. Факти, що викривали б їх недостовірність не виявлені.

Автореферат цілком відображає основні положення дисертації, зауважень до його оформлення немає.

**Дотримання принципів академічної доброчесності.** Порухення принципів академічної доброчесності при аналізі роботи не виявлені.

#### **Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення.**

Суттєвих недоліків у дисертації І. В. Марченко немає, однак у порядку наукової дискусії необхідно висловити такі зауваження.

1. Дисертація присвячена вивченню асоціації гена *ENPP1* з цукровим діабетом 2 типу, але не проведено аналізу зв'язку з основним об'єктивним показником інсулінорезистентності – індексом НОМА.

2. У таблиці 3.1.3 наведено показники глюкози крові натще в дослідній

та контрольній групах залежно від генотипу за rs997509- та rs1044498- поліморфізмами гена *ENPP1*, ( $M \pm m$ ). Але вже з таблиці 2.1.1 витікає, що вміст глюкози у хворих був значно більший. Отже, не було сенсу проведення такого порівняння.

3. Індекс маси тіла свідчить про ожиріння з величини  $30 \text{ кг/м}^2$ , отже доцільно було взяти це значення для формування групи з ожирінням.

4. Доцільно було би розрахувати вплив розподілу частот генотипів та алелів поліморфізмів гена *ENPP1* та ступінь їх асоціації з захворюванням за порівнянням дослідної та контрольної груп.

Після аналізу дисертаційної роботи залишились деякі **дискусійні питання:**

1. Чи існує статева або вікова різниця експресії білка ENPP1? Чи не пов'язано це із збільшенням ризику цукрового діабету у жінок та у віці понад 75 років, що було Вами встановлено?

2. Чи визначали Ви у пацієнтів стаж цукрового діабету, ступінь компенсації, наявність та ступінь ускладнень? Відповідно, чи проводилося порівняння асоціації поліморфізмів гена *ENPP1* з такими характеристиками перебігу захворювання?

3. Виходячи з отриманих результатів, як Ви можете пояснити механізм впливу вивчених поліморфізмів гена *ENPP1* на розвиток цукрового діабету 2 типу?

## **ВИСНОВОК**

Розглянувши дисертаційну роботу Марченко Ірини Василівни на тему: «Аналіз асоціації поліморфних варіантів гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 (*ENPP1*) з розвитком цукрового діабету 2-го типу та факторами його ризику» на здобуття ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія, та наукові праці в яких висвітлені основні наукові результати дисертації, вважаю, що робота є завершеною кваліфікаційною науковою працею з актуальної проблеми, в якій

отримані нові науково обґрунтовані результати, що у сукупності вирішують конкретну наукову задачу, яка має істотне значення для теоретичної та клінічної медицини, а саме – патофізіології, ендокринології, діабетології та медичній генетиці для прогнозування ризику розвитку цукрового діабету 2-го типу. Актуальність теми, обсяг та об'єктивність дослідження, наукова новизна, теоретичне і практичне значення результатів, які отримані, дають можливість зробити висновок, що дисертаційна робота **Марченко Ірини Василівни «Аналіз асоціації поліморфних варіантів гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1 (ENPP1) з розвитком цукрового діабету 2-го типу та факторами його ризику»** повністю відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого старшого наукового співробітника» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013 року відносно кандидатських дисертацій за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія, а її автор заслуговує на присудження ступеня кандидата медичних наук.

Офіційний опонент:

професор кафедри патофізіології

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця

доктор медичних наук

С. В. Зяблицев

